

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 57-169481

(43)Date of publication of application : 19.10.1982

(51)Int.Cl.

C07D471/04 // A61K 31/435
A61K 31/435 A61K 31/435

(21)Application number : 56-056155

(71)Applicant : OTSUKA PHARMACEUT CO LTD

(22)Date of filing : 13.04.1981

(72)Inventor : ICHIHARA TERUYOSHI

NISHIDA TSUTOMU

KATO AKIRA

TAKANO MASAOKI

KAMOTO TAKASHI

(54) BETA-CARBOLINE DERIVATIVE

(57)Abstract:

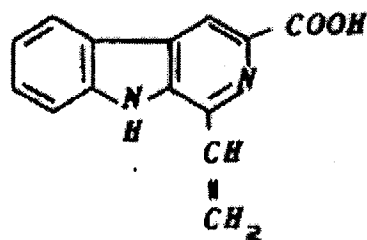
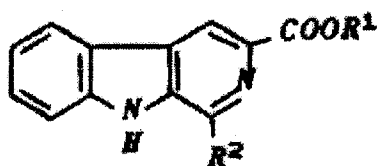
NEW MATERIAL: A derivative of formula I (R¹ is H, lower alkyl; R² is vinyl, ethyl) and its salt.

I EXAMPLE: 1-Vinyl-3-carboxy- β -carboline.

USE: Antibacterial, anticancer and anti-inflammatory.

PREPARATION: A bacteria producing β -carboline derivative in Nocardiosis, e.g., Nocardiosis dassonvillei OFR 1063

(FERM-5909) is cultured at 12W46, preferably 28W37° C and 4.0W9.5, preferably 6.2W7.5pH.



II

対応なし、英抄

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭57—169481

⑤ Int. Cl.³
C 07 D 471/04
// A 61 K 31/435

識別記号
1 0 2
ABE
ADU
ADZ

庁内整理番号
6736—4C

⑬ 公開 昭和57年(1982)10月19日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 14 頁)

⑭ β-カルボリン誘導体

⑯ 特 願 昭56—56155

⑰ 出 願 昭56(1981)4月13日

⑱ 発 明 者 市原照由

鳴門市大津町矢倉字六ノ越7—
25

⑲ 発 明 者 西田勉

鳴門市大津町木津野養父の内11
—5

⑳ 発 明 者 加藤顕

徳島市川内町加賀須野463—10

㉑ 発 明 者 高野雅明

徳島市川内町加賀須野463—10

㉒ 発 明 者 鴨頭峻

徳島市中吉野町1丁目67—1

㉓ 出 願 人 大塚製薬株式会社

東京都千代田区神田司町2丁目
9番地

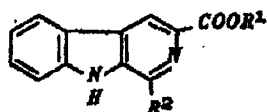
㉔ 代 理 人 弁理士 三枝英二 外2名

明 細 書

発明の名称 β-カルボリン誘導体

特許請求の範囲

① 一般式



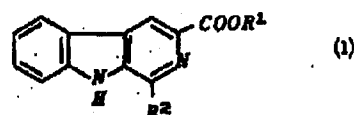
〔式中、 R^1 は水素原子又は低級アルキル基を、 R^2 はビニル基又はエチル基を示す〕

で表わされるβ-カルボリン誘導体及びその塩。

発明の詳細な説明

本発明はβ-カルボリン誘導体及びその塩に関する。

本発明のβ-カルボリン誘導体及びその塩は新規な化合物であり、下記一般式(1)で表わされる。



〔式中、 R^1 は水素原子又は低級アルキル基を、 R^2 はビニル基又はエチル基を示す。〕

本発明の上記一般式(1)で表わされるβ-カルボリン誘導体及びその塩は抗菌作用、抗ガン作用及び抗炎症作用を有し、抗菌剤、抗ガン剤及び抗炎症剤の有効成分として有用であり、また之等有効成分の製造用中間体としても使用できる。

上記一般式(1)中、 R^1 で示される低級アルキル基としては例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、tert-ブチル、ペンチル、ヘキシル基等を挙げることができる。

本発明のβ-カルボリン誘導体の代表的化合物

を以下に示す。

- 1-ビニル-3-カルボキシ-β-カルボリン
- 1-ビニル-3-メトキシカルボニル-β-カルボリン
- 1-ビニル-3-エトキシカルボニル-β-カルボリン
- 1-ビニル-3-プロポキシカルボニル-β-カルボリン
- 1-ビニル-3-tert-ブトキシカルボニル-β-カルボリン
- 1-ビニル-3-ヘキシルオキシカルボニル-β-カルボリン
- 1-エチル-3-カルボキシ-β-カルボリン
- 1-エチル-3-メトキシカルボニル-β-カルボリン

- 1-エチル-3-エトキシカルボニル-β-カルボリン
- 1-エチル-3-イソプロポキシカルボニル-β-カルボリン
- 1-エチル-3-ブトキシカルボニル-β-カルボリン
- 1-エチル-3-ペンチルオキシカルボニル-β-カルボリン
- 1-エチル-3-ヘキシルオキシカルボニル-β-カルボリン

本発明のβ-カルボリン誘導体は、その置換基の種類に応じて各種の方法により製造できる。例えば一般式(1)中 R^1 が水素原子を、 R^2 がビニル基を示す化合物は、ノカルジオブシス

(*Nocardioopsis*) 属に属するβ-カルボリン誘

導体生産菌を利用して製造することができる。上記β-カルボリン誘導体生産菌としては、ノカルジオブシス属に属する公知の微生物及び本発明者ら[沖縄県西表島より]が新たに分離した微生物を例示できる。後者の微生物はノカルジオブシス オゾンビレイ

(*Nocardioopsis dassonvillei*) OFR1063 の名称で工業技術院微生物工業技術研究所に微生物保管委託申請受附番号第5909号として委託されている。以下この委託したOFR1063株につき詳述する。

〔形態学的特徴〕

気菌糸は長く伸長し適度に分枝している。その形態は直線状ないしは曲線上であり又それらがジグザグ状になる場合もみられる。菌生菌糸はよく発達し不規則に分枝し培地の種類によってはかな

り断片化する場合がある。胞子は気菌糸が粗に分断後さらに細かく分断し形成される。胞子の大きさは不規則であり胞子の形状は長楕円形ないし円筒形でありその表面は平滑型である。

〔各培地における生育状態〕

本菌株の各種代表的培地に於ける生育状態を第1表に示す。いずれも28℃21日間の培養による観察結果であり、色調の記載は「カラーハーモニーマニュアル(*Color Harmony Manual* 第4版, 1958年, *Container Corporation of America*)」の表示法に従った。

培 地	生 育 状 態	気 菌 糸	基 生 菌 糸	基 生 菌 糸 (裏 面)	可 溶 性 色 素
シュクロー ス・酵母培 地	速度	速度、粉状、ホ ワイト (white, a)	ハニー・ゴールド (honey gold, 2ic)	ハニー・ゴールド (honey gold, 2ic)	パンプー (bamboo, 2gc)
グリコース ・アスパラ ・アンモニア培 地	速度	速度、粉状、ホ ワイト (white, a)	ライト・アイボ リー (light ivory, 2ca)	ライト・ウイ ー (light wheat, 2ca)	なし
グリセリン ・アスパラ ・アンモニア培 地	速度	速度、量、粉 状、ピロロド状、 ホワイト (white, a)	ハニー・ゴールド (honey gold, 2ic)	ハニー・ゴールド (honey gold, 2ic)	微黄色

培 地	生 育 状 態	気 菌 糸	基 生 菌 糸	基 生 菌 糸 (裏 面)	可 溶 性 色 素
イースト・ ・酵母培 地	良好 しわが よる。	速度、粉状、ホ ワイト (white, a)	シナモン (cinnamon 3lc)	シナモン (cinnamon 3lc)	微黄色
オートミール ・酵母培 地	良好	量、ピロロド 状、ホワイト (white, a)	ライト・ウイ ー (light wheat, 2ca)	ライト・ウイ ー (light wheat, 2ca)	なし
ペプトン・ イースト・ ・酵母培 地	速度 ・後期	なし	ライト・ウイ ー (light wheat, 2ca)	クリーム (cream, 1%)	なし

培 地	生 育 状 態	気 菌 糸	基 生 菌 糸	基 生 菌 糸 (裏 面)	可 溶 性 色 素
スターチ ・酵母培 地	速度	速度、粉状、ホ ワイト (white, a)	ライト・ウイ ー (light wheat, 2ca) ～ハニー・ゴールド (honey gold, 2ic)	ライト・ウイ ー (light wheat, 2ca) ～シナモン (cinnamon, 3lc)	微黄色
チロシン ・酵母培 地	良好	量、粉状、ピ ロロド状、ホ ワイト (white, a)	シナモン (cinnamon 3lc)	シナモン (cinnamon 3lc)	パンプー (bamboo, 2gc)
栄養素培 地	速度 ～ 後期	なし	ライト・アイボ リー (light ivory, 2ca)	クリーム (cream, 1%)	なし

(生 育 性 質)

1 生育温度範囲

12～46℃(最適生育温度範囲 34～37℃)

2 生育pH範囲

pH 4.0～9.5(最適生育pH範囲 pH 6.2～7.7)

3 ゼラチンの液化(グルコース・ペプトンゼラ

チン培地上)

陽性(強い)

4 スターチの加水分解(スターチ・無機塩素天

培地上)

陽性(強い)

5 脱脂牛乳の凝固・ペプトン化

凝固：陽性 ペプトン化：陽性(強い)

6 メラニン色素の生成

陽性(ペプトン・イースト・鉄素天培地、チ

第 2 表

炭 素 源	同 化 性
L-アラビノース	++
D-キシロース	++
D-グルコース	++
D-フラクトース	++
シクロロース	++
イノシトール	++
L-ラムノース	+
ラフィノース	++
D-マンニツト	++

ロシン寒天培地及びトリプトン・イーストエキス培地)

7 硝酸塩の還元

陽性(強い)

8 セルロースの分解

陰性

9 炭素源の同化性(フリドハム・ゴトリープ寒天培地上)

下記第2表に示す。但し同化性の評価は、下記による。

++ : よく同化する

± : 同化が難しい

10 細胞壁タイプと全菌体の糖組成

細胞壁組成 : ジアミノピメリン酸はメリ体が検出され、アミノ酸についてはグリシンは検出されなかった。又糖は

ガラクトースは検出されたがアラビノースは検出されなかった。

全菌体の糖組成 : ガラクトースは検出されたがアラビノース、キシロース及びマデューロースは検出されなかった。

上記の菌学的性質を有する本菌の分類学上の位置を以下に論ずる。

本菌の細胞壁と全菌体の分析結果は、ガラクトースが存在することからレシエバリエらの分類〔M.P. Lechevalier and H. Lechevalier, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 第20巻, 435~443頁, 1970年〕のどのタイプにもあてはまらない。しかしながら、糖の存在については、レシエバリエは彼の分類でタイプE.Bに属すアクチノマデューラ・マデューラ

(*Actinomodurum madurum*) が本来はガラクトースしないにもかかわらず、ガラクトースを有ス及びアラビノースを有するものと報告している〔H.P. Lechevalier, *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 第71, 934~944頁, 1968年〕ことから、本菌においてもガラクトースの存在だけが認められたが、ガラクトースとアラビノースの両方が存在しないタイプあるいはその両方が存在するタイプ、すなわちタイプE.C又はB.Mに属する菌株とするのが妥当といえる。そこで本菌は、その形態において気菌糸が直線状ないしは曲線状に長く伸長し又それらがジグザグ状になる場合もみられる点、胞子の形成は気菌糸の分断によつて形成される点、菌生菌糸はよく発達し培地によつては断片化がみられる点等の特徴を有することからタイプE.Cのノカ

ノカルジオブシス (*Nocardioopsis*) 属〔*J. Meyer, International Journal of Systematic Bacteriology*, 第26巻, 487~493頁, 1976年〕の性状によく一致する。

ノカルジオブシス属に属する菌種としては、ノカルジオブシスダソソビレイ (*Nocardioopsis dassonvillei*) 〔*J. Meyer, International Journal of Systematic Bacteriology*, 第26巻, 487~493頁, 1976年〕、ノカルジオブシス・シリング (*Nocardioopsis syringae*) 〔*G. F. Gause, M. A. Soshnikova, R. S. Usholina, G. N. Komarova and V. S. Bashanov, Antibiotiki*, 第22巻, 483~486頁, 1977年〕及びノカルジオブシス アトラ (*Nocardioopsis atra*) 〔*U. S. Pat. 4,212,944*〕の3種が知られているが、本

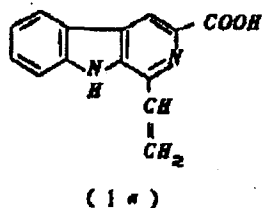
菌株の気菌糸は白色であり、基生菌糸は特徴ある色調を示さず、可溶性色素は産生しないかあるいはわずかに黄色ないし褐色の色素を産生すること及び糖の同化能はL-アラムノース以外よく一致する等の各性状がノカルジオブシス ダソソビレイの性状と一致する。従つて本菌株はノカルジオブシス ダソソビレイと同定され得る。

本発明化合物は、上記OPR1063株に限らず、ノカルジオブシス属に属する他の各種のβ-カルボリン誘導体生産菌を利用して製造することができる。その製造は具体的には、まず上記微生物を通常の栄養物及び添加物を含む培地で培養する。培養基として一般に用いられる窒素源としては、例えば木豆粉、大豆油、コーンステフプリカー、酵母エキス、乾燥酵母、オートミール、

肉エキス、カゼイン加水分解物、アンモニウム塩、硝酸塩等を例示でき、炭素源としては、例えばブドウ糖、グリセリン、麦芽糖、デンプン、乳糖、シロ糖、糖蜜等を例示できる。また培地に添加される添加物としては例えば炭酸カルシウム、塩化ナトリウム、硫酸マグネシウム、リン酸等の無機塩を例示でき、更に該培地は必要に応じて、鉄、銅、マンガン、亜鉛等の金属の塩を微量含有していてもよい。培養は、上記培養基を含む通常の水性培地で、表面培養でも深部通気攪拌培養でも実施できるが、深部通気攪拌培養を行うのが好ましい。培養条件は通常の通気条件下に、液性がpH 4.0~9.5, 好ましくはpH 6.2~7.7及び培養温度12~46℃、好ましくは28~38℃で通常2~4日間で有利に培養できる。

次いで上記培養後に培養液中に生産された物質を採取する。採取法は特に制限されず生産された本発明化合物の理化学的性状を利用した公知の各種方法がいずれも採用できる。例えば不純物との溶解度の差、通常の吸着剤例えば活性炭、XAD-2、シリカゲル、イオン交換樹脂、セフアデラクス等に対する吸着親和力の差、二液相間の分配率の差等を利用する方法及び之等方法の組み合わせにより実施できる。より具体的には、培養液を常法に従い戸通もしくは遠心分離して予め菌体を除去する。戸液をポリスチレン系吸着剤で処理し次いでシリカゲルカラムクロマトグラフに供し、得られる各画分を後述する抗菌活性試験に供し、活性な画分を集める。これより溶媒を留去し残渣を再結晶する。

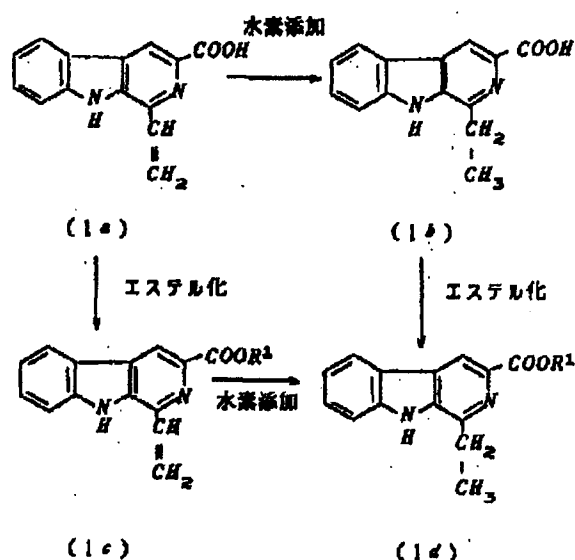
かくして下記構造式(1a)で示される1-ビニル-3-カルボキシ-β-カルボリンが単離精製される。



本発明の一般式(1)で示されるβ-カルボリン誘導体のうち、上記式(1a)で示される化合物(以下化合物(1a)という)以外のものは、該化合物(1a)を出発原料として下記反応行程式-1に示す方法に従い製造することができる。

(1b)という)に導くことができる。該反応は従来公知の方法、例えば接触還元による方法、還元剤を用いる方法等好ましくは接触還元による方法に準じて実施できる。接触還元による方法に於て、用いられる接触還元触媒としては具体的には白金黒、酸化白金、コロイド白金等の白金触媒、パラジウム炭素、コロイドパラジウム等のパラジウム触媒、ロジウムアルミナ、石綿付ロジウム等のロジウム触媒、ラネーニッケル、酸化ニッケル等のニッケル触媒、ルテニウム触媒等を例示できる。斯かる接触還元触媒の使用量としては特に限定されず広い範囲内で適宜選択し得るが、化合物(1a)に対して通常0.1~50重量%、好ましくは1~20重量%程度用いるのがよい。また該方法に於て用いられる溶媒としては例えば、水、メタノール、エタノール、イソプロパノール、エ

反応行程式-1



〔式中 R^1 は前記に同じ。〕

反応行程式-1によれば化合物(1a)を水素添加することにより一般式(1)中 R^1 が水素原子及び R^2 がエチル基である本発明化合物(以下化合物

1-エチル-3-カルボキシ-β-カルボリン、酢酸、プロピオン酸、酢酸エチル等の低級脂肪酸及びそのエステル類、ジエチルエーテル、ジオキサン、テトラヒドロフラン等のエーテル類等好ましくは低級アルコール類及び酢酸等を挙げることができる。該反応は通常常圧~10気圧下に0~100℃、好ましくは10~50℃にて行なわれ、一般には1~10時間程度で反応は終了する。

化合物(1a)をエステル化することにより一般式(1)中 R^1 が低級アルキル基及び R^2 がビニル基である本発明化合物(以下化合物(1e)という)を得る。この反応は、常法により化合物(1a)と低級アルコールとを通常のエステル化反応に使用されている触媒の存在にエステル化反応させることにより行なわれる。この際使用される代表的な

触媒としては、例えば塩酸ガス、濃硫酸、リン酸、ポリリン酸、三フッ化ホウ素、過塩素酸などの無機酸、トリフロロ酢酸、トリフロロメタンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸、ノートシル酸、ベンゼンスルホン酸、エタンスルホン酸などの有機酸の他トリフロロメタンスルホン酸無水物などの酸無水物、塩化チオニル、アセトンジメチルアセタールなどを例示できる。さらにカチオン交換樹脂も上記触媒として用いることができる。これらの触媒の使用量は通常用いられる範囲のものでよい。上記エステル化反応は無溶媒もしくは溶媒中のいずれでも進行する。用いられる溶媒としては、通常のエステル化反応に使用される各種の溶媒が例えばベンゼン、トルエン、キシレンなどの芳香族炭化水素類、ジクロロメタン、ジクロロエタン、

クロロホルム、四塩化炭素などのハロゲン化炭化水素類、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、エチレングリコールモノメチルエーテルなどのエーテル類を例示できる。化合物(14)と低級アルコールとの使用割合は、広い範囲にわたり適宜に選択すればよいが、目的物の生成率を良好にするためには、通常無溶媒の場合には前者に対し後者を大過剰、また溶媒を用いる場合には前者に対し後者を等モル～5倍モル(とくに好ましくは等モル～2倍)用いるのが好ましい。なお、このエステル化反応においては、無水塩化カルシウム、無水硫酸銅、無水硫酸カルシウム、五酸化リンなどの乾燥剤を用いて生成水を反応系から除去することにより、さらに生成率を増大させることも可能である。反応温度は適宜選択すれ

ばよく、通常約 $-20 \sim 200^{\circ}\text{C}$ 程度の範囲、とくに約 $0 \sim 150^{\circ}\text{C}$ 程度の範囲で行なうのが好ましい。また反応時間は一般に約10分～20時間程度である。

又、上記エステル化反応は、化合物(14)のカルボキシ基の活性化された誘導体、例えばカルボン酸ハライド、カルボン酸無水物などを用いても行なうことができる。

さらに上記エステル化反応において、目的とする化合物がメチルエステルである場合には、化合物(14)をジアリメタンと反応させることによっても目的物を得ることができる。この化合物(14)とジアリメタンとの反応は、前記のエステル化反応において用いられたと同一の溶媒を使用して、通常 $-5 \sim 20^{\circ}\text{C}$ 好ましくは $0 \sim 5^{\circ}\text{C}$ 程度

で5分～1時間程度で行なうことができる。この取化合物(14)とジアリメタン(通常エーテル、ジクロロメタン等の溶液として使用する)との使用割合は、通常前者に対して後者を1～2倍モル、好ましくは1～1.5倍モル程度用いるのがよい。

かくして得られる化合物(15)は、常法によりエステル交換することができる。該エステルの交換反応は、目的とするエステルに対応する金属アルコールを用いて容易に行なうことができる。エステル交換反応には前記のエステル化反応に用いられたと同様の溶媒を使用でき、反応させる金属アルコールに対応した低級アルコールを用いるのが好ましい。原料化合物と金属アルコールとの使用割合は、広い範囲にわたり適宜に選択されるが、目的物の生成率を良好にするために通常

前者に対して後者を等モル～5倍モル、好ましくは等モル～2倍モル量程度用いるのがよい。反応温度及び反応時間は前記化合物(14)のエステル化反応と同様の反応条件を採用できる。

上記により得られる化合物(14)は、これをエステル化することにより、また上記により得られる化合物(14)は、これを水素添加することにより、夫々一般式(1)中 R_1^2 が低級アルキル基及び R^2 がエチル基である本発明化合物(以下化合物(14)という)に導くことができる。上記化合物(14)をエステル化する反応及び化合物(14)を水素添加する反応は、夫々前記の化合物(14)のエステル化及び水素添加と同様にして行なうことができる。

かくして得られる本発明の一般式(1)で表わされ

いられる溶媒としては、水、メタノール、エタノール、プロパノール等の低級アルコール類、ジオキサン、テトラヒドロフラン等のエーテル類、アセトン、ベンゼン、酢酸エチル、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、塩化メチレン、クロロホルム等を例示できる。上記反応は、通常大気中又は無酸素条件下好ましくは例えば窒素、アルゴン等の不活性ガス雰囲気下に、室温～100℃好ましくは室温～50℃の温度条件下に、約5分～6時間で実施される。塩基性化合物の使用量は、特に制限はないが、通常出発原料とする化合物の酸性基に対して当量以上好ましくは1～2当量とするのがよい。

上記した各工程の反応終了後目的とする化合物は、通常公知の分離手段により容易に単離精製で

るβ-カルボリン誘導体のうち酸性基を有する化合物は、塩基性化合物と反応して容易に塩を形成し得るものであり、本発明はこのβ-カルボリン誘導体の塩をも包含する。

上記塩基性化合物としては、具体的には、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸水素ナトリウム等のアルカリ金属又はアルカリ土類金属の水酸化物、炭酸化物等を例示できる。また例えばメチルアミン、エチルアミン、イソプロピルアミン、モルホリン、ピペラジン、ピペリジン、3,4-ジメトキシフェネチルアミン等の有機アミン類も上記塩基性化合物として利用できる。之等塩基性化合物による塩形成反応は、通常の塩形成反応に従い適当な溶媒中で容易に実施できる。用

きる。該分離手段としては例えば溶媒留去、溶媒抽出、沈殿、再結晶、カラムクロマトグラフィー、プレパラティブクロマトグラフィー等を任意に採用できる。

かくして得られる本発明の一般式(1)で表わされるβ-カルボリン誘導体及びその塩は、之を例えば抗菌剤等の医薬用薬剤として用いるに当り、通常製剤的担体と共に製剤組成物の形態とされる。担体としては使用形態に応じた薬剤を調製するのに通常使用される充填剤、増量剤、結合剤、付湿剤、崩壊剤、表面活性剤、清沢剤等の希釈剤あるいは賦形剤を例示できる。

薬剤の投与単位形態としては各種の形態を治療目的に応じて選択でき、その代表的なものとして錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、

カプセル剤、坐剤、注射剤（液剤、懸濁剤等）等を例示できる。錠剤の形態に成形するに際しては、担体として例えば乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖液、デンプン、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、ケイ酸等の賦形剤、水、エタノール、プロパノール、単シロップ、ブドウ糖、デンプン液、ゼラチン溶液、カルボキシメチルセルロース、セラック、メチルセルロース、リン酸カリウム、ポリビニルピロリドン等の結合剤、乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、ラミナリア末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ツウイン、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド、デンプン、乳糖等の崩壊剤、白糖、ステアリン、カカオバター、水素添加油等の崩壊抑制剤、第四級アンモニウム塩

例えばポリエチレングリコール、^{〔高吸アルコール〕}カカオ脂、^{〔高吸アルコール〕}高吸アルコールのエステル類、ゼラチン、半合成グリセライド等を使用できる。注射剤として調製される場合には液剤及び懸濁剤は、殺菌され且つ血液と等張であるのが好ましく、これら液剤、乳剤及び懸濁剤の形態に成形するのに際しては、稀釈剤として例えば水、エチルアルコール、プロピレングリコール、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビット、ソルビタンエステル等を使用できる。なおこの場合等張性の溶液を調製するに十分な量の食塩、ブドウ糖あるいはグリセリンを薬剤中に含有せしめてもよく、また通常の溶解補助剤、懸濁剤、無痛化剤、保存剤等を、更に必要に応じて着色剤、保存剤、香料、風味剤、

並、ラウリル硫酸ナトリウム等の吸収促進剤、グリセリン、デンプン等の保湿剤、デンプン、乳糖、カオリン、ベントナイト、コロイド状ケイ酸等の吸着剤、精製タルク、ステアリン酸塩、水尿酸末、マクロゴール、固体ポリエチレングリコール等の滑沢剤等を使用できる。丸剤の形態に成形するに際しては、担体として例えばブドウ糖、乳糖、デンプン、カカオ脂、硬化植物油、カオリン、タルク等の賦形剤、アラビアゴム末、トラカント末、ゼラチン、エタノール等の結合剤、ラミナリア、カンテン等の崩壊剤等を使用できる。更に錠剤は必要に応じ通常の劑皮を施した錠剤例えば糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被錠、フィルムコーティング錠あるいは二重錠、多層錠とすることができる。坐剤の形態に成形するに際しては、担体として例

甘味剤等や他の医薬品を、該薬剤中に含有せしめてもよい。

薬剤中に含有されるべき本発明化合物の量は特に限定されず広範囲に適宜選択されるが、通常全組成物中1〜70重量％、好ましくは5〜50重量％とするのがよい。

上記薬剤は、その使用に際し特に制限はなく各種形態に応じた方法で投与される。例えば錠剤、丸剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤及びカプセル剤の場合には経口投与される。また注射剤の場合には単独であるいはブドウ糖、アミノ酸等の通常の補液と混合して静脈内投与され、さらには必要に応じて単独で筋肉内、皮内、皮下若しくは腹腔内投与される。坐剤の場合には直腸内投与される。

薬剤の投与量は使用目的、症状等により適宜適

扱されるが、通常本発明化合物の投与量を1日当り0.5～30mg/kg程度の範囲とするのが好ましい。

かくして本発明化合物を有効成分とする薬剤は、抗菌剤としてまた抗ガン剤、抗炎症剤として有用である。

以下本発明化合物の薬理試験結果を示す。

〔抗菌力試験〕

種々の菌（細菌及び真菌）に対する本発明化合物（1-ピニル-3-カルボキシ-β-カルボリン）の抗菌作用を瘧天希釈平板法により求めた。試験結果を最小発育阻止濃度（MIC、μg/ml）にて、下記第3表に示す。尚細菌の場合は、ハートイッフェーション培地（榮研化学社製）で37℃で18時間インキュベーションし、また真菌の場合

供試菌名	供 試 菌 名	MIC (μg/ml)
7	ストレプトコッカス ピオゲネス IID S-23 (<i>Streptococcus pyogenes</i>)	100
8	エシェリヒア コリ NIHJ-IC-2 (<i>Escherichia coli</i>)	>200
9	プロテウス レットグリ NIE 96 (<i>Proteus rettgeri</i>)	100
10	サルモネラ トリフイー O-901 NCTC8393 (<i>Salmonella typhi</i>)	200
11	シゲラ ソンネイ EW-33 (<i>Shigella sonnei</i>)	>200
12	セラチア マルセツセンス IFO 12648 (<i>Serratia marcescens</i>)	>200
13	クレブシエラ ニューモニア IFO 3512 (<i>Klebsiella pneumoniae</i>)	>200
14	シュードモナス エルギノーサ ATCC 10145 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	>200

特開昭57-169481(10)

合はバレイショ・ブドウ糖瘧天培地（日本製薬社製）で28℃、48時間インキュベーションした。

第 3 表

供試菌名	供 試 菌 名	MIC (μg/ml)
1	スタフィロコッカス オーレウス FDA209P (<i>Staphylococcus aureus</i>)	25
2	バチルス スブチリス PCI-219 (<i>Bacillus subtilis</i>)	12.5
3	バチルス アントラシス (<i>Bacillus anthracis</i>)	25
4	バチルス セレウス ATCC 11778 (<i>Bacillus cereus</i>)	12.5
5	バチルス ブエリス IFO 3813 (<i>Bacillus pumilus</i>)	25
6	バチルス サークキュラリス ATCC 8241 (<i>Bacillus circulans</i>)	50

供試菌名	供 試 菌 名	MIC (μg/ml)
15	ピリキユラリア オリゼー (<i>Phicicaria oryzae</i>)	50
16	スクレロチニア スクレロチオルム (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>)	50
17	フィトフィトラ キヤプシツシー (<i>Phytophthora capsici</i>)	12.5
18	コルチシウム ササキ (<i>Corticium sasakii</i>)	100

上記第3表より、本発明化合物は各種のグラム陽性菌、グラム陰性菌及び真菌類に対して抗菌作用を有することが明らかである。

〔KB細胞に対する細胞毒性試験〕

試験に供したヒト鼻咽頭ガン由来のKB細胞は、10%小牛血清含有イーグルMEM培地（日本製

薬社製)で培養した。即ち直径15mm及び長さ150mmのガラス製試験管に、上記培地1ml、細胞浮遊液0.1ml及び本発明化合物(1-ピコル-3-カルボキシ-β-カルボリン)のジメチルスルホキシド(DMSO)溶液0.1mlを入れ、斜位型試験管立を用いて培養した。

対照群として、上記において本発明化合物に替えて、マイトマイシンC(協和薬品社製)の生理食塩水溶液0.1mlを用い同様にした。試験群及び対照群は各濃度で夫々3本ずつ試験した。

培養はCO₂-インキュベーター(5%炭酸ガス気流)、を用い37℃で72時間行なつた。

試験後蛋白量を、オヤマ及びイーグル(Oyama and Eagle)の方法(Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 91, 305~307(1956))に準じ、フオリッ-

シオカルデユ試薬(Folin-Ciocalteu's reagent)を用いて定量した。また蛋白合成の阻害率は、試験開始時の蛋白量をC₀、試験終了時の蛋白量をT(薬剤投与群)及びC(薬剤を含まない培養単独投与によるコントロール群)として、下式により算出した。尚上記C₀はいずれも

22.1μg/試験管であつた。

$$\text{阻害率(\%)} = \frac{C-T}{C-C_0} \times 100$$

また50%阻害濃度(ID₅₀)は、対数濃度反応曲線により求めた。結果を第4表に示す。

第 4 表

	薬剤濃度 (μg/ml)	試験後蛋白 量 (μg/試験管)	阻害率 (%)	ID ₅₀ (μg/ml)
本発明化合物試験群	1	57.2	57.6	0.86
	0.5	85.4	23.7	
	0.25	96.1	10.8	
	0	105.1	0	
対照群	0.0125	35.9	78.8	0.0056
	0.0031	70.0	26.8	
	0	87.6	0	

以下本発明化合物の製造例を実施例として示す。

実施例1

500ml容三角フラスコに100mlの下記組成の培地を入れこの培地中でノカルジオブシス・ダソジレイOFFR 1.063株を30℃、pH 7.0で3日間回転培養とう培養を行なう。

<培地組成>

スターチ 30g/l

ブドウ糖 5 "

ポリバブトンス 10 "

MgSO₄ · 7 H₂O 0.5 "

KH₂PO₄ 0.02 "

Na₂HPO₄ 0.05 "

C₆H₁₂ · 6 H₂O 1g/l

FeSO₄ · 7 H₂O 1 "

MnCl₂ · 4 H₂O 1 "

ZnSO₄ · 7 H₂O 1 "

上記で得られた培養液25mlを、500mlの上記組成の培地を入れた2l容の板口フラスコ中で培養温度30℃で2日間回転培養とう培養を行なう。この前培養液8lを、600lの前記組成の培地を入れた1l容タンクで培養温度30℃、通気量

600 μ /分、攪拌数120回転/分で64時間培養を行なう。

得られた培養液を8000回転/分で遠心分離し菌体を除去し、この上澄液を「ダイタイオンRP20」(三菱化成社製)50 μ を充てんしたカラムにチャージして、水洗後100 μ の酢酸エチルで溶出し、溶出液を濃縮して褐色残渣210 μ を得る。この残渣80 μ をシリカゲル800 μ のカラムクロマトに付しクロロホルム：メタノール=10：1で展開し、 R_f 1～ R_f 3.3の各200 μ のフラクションを得る。次いでクロロホルム：メタノール=5：1で展開して、 R_f 3.4～ R_f 5.1の各200 μ のフラクションを得る。

各フラクションの抗菌活性を試験し R_f 1.7～ R_f 3.7に活性を認める。 R_f 1.7～ R_f 3.7のフラクシ

陽性(黄色)

溶解性

ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、アルカリ水に可溶であり、メタノール、エタノール、テトラヒドロフランに懸濁であり、水、クロロホルム、エーテル、ジオキサンに不溶である。

元素分析値($C_{14}H_{10}N_2O_2$ として)

	C	H	N
計算値(%)	70.58	4.23	11.76
分析値(%)	70.36	4.46	11.86

UVスペクトル

$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}} = 225 \text{ nm} (\epsilon = 19700)$

281 nm ($\epsilon = 41300$)、358 nm ($\epsilon = 6970$)、365 nm ($\epsilon = 6500$)

特開昭57-169481(12)

ョンを合一し、濃縮して結晶化する。これを取り出して3.23 μ の粗結晶を得る。粗結晶500 μ をメタノール-アセトニトリルより再結晶して、黄色柱状品の抗菌活性物質1-ジニル-3-カルボキシ- β -カルボリン250 μ を得る。この化合物の生成は以下の理化学的特性より確認される。

R_f 値(シリカゲル薄層クロマトグラフィー)

0.56(n -ブタノール：酢酸：水=4：1：1)

0.60(n -プロパノール：2*N*-アンモニア=7：3)

融点

254～256 $^{\circ}$ C(分解)

ドラッグンドルフ試験

陽性(赤褐色)

フロムクレゾールグリーン試験

IRスペクトル

$KBr_{\text{max}} = 3200, 3050, 3000, 2900, 2850,$

1710, 1620, 1580, 1500, 1455,

1360, 1310, 1250, 1140, 1105,

1070, 995, 935, 895, 815, 795,

740, 655, 595, 545, 500 cm^{-1}

NMRスペクトル

$\delta_{\text{DMSO-d}_6}^{\text{ppm}} = 12.23(1H, br, s),$

8.86(1H, s)、8.39(1H, d, $J =$

7.6Hz)、7.69(1H, d, $J = 7.6Hz$)、

7.61(1H, s, $J = 7.6Hz$)、

7.48(1H, dd, $J = 16.9, 10.6Hz$)、

7.31(1H, s, $J = 7.6Hz$)、6.71(1H,

dd, $J = 16.9, 1.2Hz$)、5.73(1H,

dd, $J = 10.6, 1.2Hz$)

実施例 2

1-ピニル-3-カルボキシ-β-カルボリン 300 等をメタノール 20 ml に溶解し、10 g パラジウム炭素 15 等を加え常圧で 1 時間接触還元を行なう。反応溶液より触媒を除去し、溶媒を留去して残渣 28 等を得る。これをメタノール-アセトニトリルより再結晶して淡黄緑色柱状品の 1-エチル-3-カルボキシ-β-カルボリン 18 等を得る。

融点 270 ~ 272 °C (分解)

実施例 3

1-ピニル-3-カルボキシ-β-カルボリン 400 等をメタノール 15 ml に懸濁し、氷水中で冷却 (0 °C) しながらジアゾメタンのエーテル溶液を攪拌下に反応溶液から気泡が発生しなくなる

実施例 5

1-ピニル-3-メトキシカルボニル-β-カルボリン 325 等をエタノール 14 ml に懸濁し、氷水中で冷却しながらナトリウムエテラート 90 等をエタノール 2 ml に溶かした溶液を攪拌下に滴下する。室温に戻し 1 時間攪拌する。反応溶液より溶媒を留去し得られた残渣をシリカゲル 8 g のクロマトに付し、ベンゼン：酢酸エチル = 3 : 1 で展開する。5 ml ずつフラクションを取り、フラクション 4 と 5 を合一し、溶媒を留去して粗結晶 210 等を得る。ベンゼン-酢酸エチルより再結晶して微黄色針状品の 1-ピニル-3-エトキシカルボニル-β-カルボリン 54 等を得る。

融点 198 ~ 220 °C (分解)

実施例 6

まで添加する。溶媒を留去して黄褐色の残渣を得る。この残渣をシリカゲル 10 g のクロマトに付しベンゼン：酢酸エチル = 2 : 1 で展開し、3 ml ずつのフラクションを得る。フラクション 4 ~ 6 を合一し、溶媒を留去して粗結晶 340 等を得る。ベンゼン-酢酸エチルより再結晶して微黄色針状品の 1-ピニル-3-メトキシカルボニル-β-カルボリン 65 等を得る。

融点 213 ~ 215 °C (分解)

実施例 4

実施例 3 と同様にして 1-エチル-3-カルボキシ-β-カルボリン より 1-エチル-3-メトキシカルボニル-β-カルボリン を得る。

微黄色柱状品 (ベンゼン-酢酸エチル)

融点 223 ~ 225 °C

実施例 5 と同様にして 1-エチル-3-メトキシカルボニル-β-カルボリン より 1-エチル-3-エトキシカルボニル-β-カルボリン を得る。

微黄色針状品 (エタノール)

融点 208 ~ 210 °C

以下本発明化合物を有効成分とする製剤調製例を挙げる。

製剤例 1

1-ピニル-3-カルボキシ-β-カルボリンのナトリウム塩 200 等

ブドウ糖 250 等

注射用蒸留水 適量

全量 5 ml

注射用蒸留水に本発明化合物及びブドウ糖を溶解させた後 5 ml のアンプルに注入する。直ちに使用

後121℃で15分間加圧減圧を行ない注射を得る。

製剤例2

1-エチル-3-メトキシカルボニル-β-カルボリン	100g
アピシエル(商標名、旭化成製)	40g
コンスターチ	30g
ステアリン酸マグネシウム	2g
TC-5(商標名、ヒドロキソプロピルメチルセルロース)	10g
ポリエチレングリコール-6000	3g
ヒマシ油	40g
メタノール	40g

本発明化合物アピシエル、コンスターチ及びステアリン酸マグネシウムを取り混合研摩後精衣R10mmのキネで打錠する。得られた錠剤をTC-

R10mmのキネで打錠する。得られた錠剤をアクリル酸メチル-メタクリル酸共重合体、トリアセチン及びエタノールからなるフィルムコーティング剤で被覆を行ない腸溶錠を製造する。

(以上)

代理人 弁護士 三 枝 英 二



5、ポリエチレングリコール-6000、ヒマシ油及びメタノールからなるフィルムコーティング剤で被覆を行ないフィルムコーティング錠を製造する。

製剤例3

1-ピコル-3-メトキシカルボニル-β-カルボリン	100g
アピシエル	40g
コンスターチ	30g
ステアリン酸マグネシウム	2g
アクリル酸メチル-メタクリル酸共重合体	5.7g
トリアセチン	0.6g
エタノール	50.4g

本発明化合物、アピシエル、コンスターチ及びステアリン酸マグネシウムを取り混合研摩後精衣